‘东红’猕猴桃高效再生体系的建立

吕海燕[1]，李大卫，钟彩虹*

（中国科学院武汉植物园，中国科学院植物种质创新与特色农业重点实验室，武汉 430074）

摘 要：为有力的推动猕猴桃产业化种苗生产及推广，快速高效的繁育猕猴桃新种质资源，同时为猕猴桃多倍体育种、转基因育种等新兴育种技术创造新种质资源奠定基础，该研究以‘东红’猕猴桃叶片、叶柄为外植体，探讨了不同植物生长调节剂种类及质量浓度组合对不定芽诱导过程中不定芽形成的影响，并研究了不同植物生长调节剂对‘东红’组培苗不定根诱导的影响。结果表明，‘东红’再生最佳外植体为叶柄。叶柄不定芽再生最佳培养基为 MS + 0.5 μg·mL^{-1} 6-BA + 0.2 μg·mL^{-1} NAA，不定芽平均再生率为 91.2%，不定芽经过壮苗培养（MS + 0.2 μg·mL^{-1} 6-BA + 0.05 μg·mL^{-1} NAA），取 2～3 cm 高幼苗进行生根诱导，不定根再生率为 93%，平均根数为 6 条。生根后，种苗移栽成活率达 80%以上。初步建立了‘东红’叶柄高效再生体系，为猕猴桃快速的产业化种苗生产提供有力保证，也为后期猕猴桃育种研究提供理论依据。

关键词：猕猴桃，‘东红’，再生体系，叶柄，移栽

DOI：10.11931/guihaia.gxzw201803043

Regeneration system of tissue culture of *Actinidia chinensis* ‘Donghong’

LÜ Haiyan[1], LI Dawei, ZHONG Caihong*

(Key Laboratory of Plant Germplasm Enhancement and Specialty Agriculture, Wuhan Botanical Gargen, Chinese academy of Science, Wuhan 430074*)*

Abstract: In this study, the petioles and leaves of ‘Donghong’ were used as materials to establish a rapid propagation system, which laid a foundation for the genetic transformation of kiwifruit. Young petioles and leaves were chosed as explants, followed by screening and disinfection treatment, the effects of different plant growth regulators on frequencies of callus formation and adventitious bud regeneration were investigated by culturing on the induction medium. Moreover, the influence of different types of plant growth regulators on the induction of adventitious roots was also analyzed. The results indicated that the combination of different concentrations of 6-BA and NAA had a strong effect on the bud regeneration rate, and the optimum combination (MS + 0.5 μg·mL^{-1} 6-BA + 0.2 μg·mL^{-1} NAA) were obtained, in which the frequency of bud regeneration from leaves and petioles reached 63.4% and 91.2% after 35 d culture, respectively. The adventitious bud regeneration rate of petiole explant of ‘Donghong’ was significantly higher than that of leaf explant. The frequency of adventitious bud regeneration from petioles was up to 91.2% and the average amount of regenerated buds for each petiole explant was 9-12. The result suggested that IBA was much more effective than NAA for rooting. The best cencentration of IBA was 0.5 μg·mL^{-1}, and the rate of adventitious root regeneration and the average number of roots per shoot were 93% and 6,

---

收稿日期：2018-03-26

基金项目：国家自然科学基金面上项目（31572092）；湖北省技术创新专项（重大项目）（2016ABA109）；中国科学院科技服务网络计划（KFJ-EW-STS-076）。[Supported by National Natural Science Foundation of China (31572092)；Technical Innovation Special of Hubei Province(Major Project)（2016ABA109）；Science and Technology Service Network Program of the Chinese Academy of Sciences （KFJ-EW-STS-076）].

作者简介：吕海燕（1983-），女，湖北荆门人，硕士，工程师，主要从事猕猴桃组织培养技术研究，(E-mail)huixiang033@sina.com。

*通信作者：钟彩虹，博士，研究员，主要从事猕猴桃育种、种质资源及种植技术等研究，(E-mail)zhongch@wbgcas.cn。

respectively. More than 80% of plantlets survived after transplanting. This fast and direct differentiation simplified the process of adventitious bud formation differentiated from callus, which shortened the culture process and provided a powerful guarantee for the rapid industrialization of seedling production.

Key words: Kiwifruit，‘Donghong’，regeneration system，petiole，transplanting

猕猴桃资源收集、品种选育始于 20 世纪初，经过一百多年的生产、推广、发展已在全球形成近 24.5 万公顷的种植规模，年产值已达百亿以上。中国猕猴桃的大规模种植、生产始于 20 世纪 70 年代末，目前中国猕猴桃的种植面积和产量均跃居世界第一（张计育等，2014）。红肉猕猴桃因其甜浓的风味及丰富的营养，在国内外消费市场上颇受消费者的喜爱。从全球不同果肉颜色的猕猴桃种植面积来看，红肉猕猴桃的种植面积还有进一步的发展空间（齐秀娟等，2015）。中国科学院武汉植物园从‘红阳’开放式授粉种子实生后代中，经过 15 年的种质筛选培育获得一个猕猴桃新品种—‘东红’猕猴桃，该新品种于 2012 年 12 月通过品种审定（国 S-SV-AC-031-2012）。‘东红’猕猴桃在风味口感、可溶性固形物、维生素含量及耐储性上都更优于‘红阳’，集早熟、耐储、优质为一体的红肉猕猴桃新品种。（黄宏文等，2000，2013）。

随着中国猕猴桃新品种选育速度的的加快，为了更快速的推广新品种和保留新品种优良品质，采用猕猴桃的组织培养技术进行繁殖是最快速和有效的方法之一。利用组织培养快速高效的繁育大量优质猕猴桃种苗，将为加速猕猴桃优良品种的产业化生产及推广做出贡献（隆前进，2010）。近年来，有关猕猴桃组织培养技术的研究已获得了重要进展。猕猴桃花药培养、离体胚培养、胚乳培养、叶片、茎段、根、叶柄等器官培养、原生质体培养及融合以及新兴的生物技术育种都取得了很大的成效（刘铮等，2013；秦永华等，2014）。

基于对‘东红’猕猴桃的优良性状的保存及产业化种苗生产模式的探讨，本试验取‘东红’猕猴桃叶片、叶柄为外植体，通过不定芽诱导和生根诱导试验，建立其快繁再生体系，为‘东红’猕猴桃快速的产业化种苗生产及推广提供有力保证，也为后期猕猴桃倍性育种及遗传转化育种研究提供理论依据。

1. 材料和方法

1.1 材料

2015 年 3 月 25 日采自中国科学院武汉植物园猕猴桃国家资源圃‘东红’未木质化嫩枝，自来水冲洗 1 h，在超净工作台上用 75%酒精浸泡 45 s，0.1%升汞 10 min，无菌水冲洗 4～5 次，然后切成 1～2 个腋芽的茎段，形态学下端插入 MS + 1.0 μg·mL^{-1} 6-BA + 0.2 μg·mL^{-1} NAA 上，置于光培养室光下培养，12 h • d^{-1}，（25 ±2）℃，21-28 天后调查腋芽萌发率，并以获得的无菌试管苗为外植体来源进行再生试验。

1.2 方法

1.2.1 不定芽的再生

切取试管苗完全展开幼嫩叶片，0.5 cm×0.5 cm，叶柄及主脉靠叶柄端单独取出，切成 0.5 cm 小段，置于培养基上，培养基以 MS 为基本培养基，附加不同质量浓度的 6-BA，NAA，以不加任何激素的 MS 为对照，6-BA 质量浓度 2.0、1.0、0.5 μg·mL^{-1}，NAA 质量浓度 0.1、0.2、0.4 μg·mL^{-1}，随机设置 9 各处理，加上对照共 10 个，每处理 3 次重复，每个重复 15 个外植体。接种后置于光照条件下培养，培养 28 d 后统计不定芽和愈伤再生率，不定芽在最佳不定芽再生培养基上继代一次后，转入壮苗培养基中进行培养。

1.2.2 不定芽的生根

将生长状态相对一致的高 2～3 cm，具 3～4 片叶的不定芽切下，分别接种到附加有不同质量浓度的 NAA、IBA 的 1/2 MS 培养基上进行生根培养，以 1/2MS 为对照，每处理重复 3 次，每个重复 15 个不定芽，培养 21 d 后，统计生根率和平均生根数量。

本试验光培养条件为 12 h • d^{-1} 光照，光照强度 2 500 lx，温度(25 ±2) ℃，MS 基本培养基添加蔗糖质量浓度 3×10^4 μg·mL^{-1}，琼脂质量浓度 7.5×10^3 μg·mL^{-1}，pH 6.0。

1.2.3 种苗的驯化移栽

当组培苗根长 1～2 cm 时，将瓶苗取出至移栽温室进行驯化，2～3 d 后松瓶盖，一周后取出生根苗，清水洗净根部培养基，移栽至装有灭菌基质（泥炭土: 草炭土:珍珠岩=2:1:1）的穴盘中。移栽后一到两周保证环境温度 20～30 ℃，空气湿度 70%～85%，夏季移栽适当遮阴，两周后可适当过渡到常规管理。一个月后统计种苗移栽成活率及生长状况。

1.2.4 数据分析

采用 SPSS 数据分析软件处理数据，进行方差分析。

愈伤再生率=再生愈伤叶片数（叶柄数）/接种外植体总数

不定芽再生率=再生芽叶片数（叶柄数）/接种外植体总数

不定芽生根率=生根芽数/接种不定芽数量

2. 结果分析

2.1 不同质量浓度组合的植物生长调节剂对不定芽形成的影响

外植体接入各处理培养基 9～10 d 后，叶片和叶柄切口处都开始膨大，部分切口边缘生成少量愈伤组织并随之出现增殖生长，部分切口处直接再生出单个或芽丛状不定芽。在培养基中添加不同浓度的 6-BA 和 NAA，结果表明，不同配比的植物生长调节剂对离体叶片和叶柄不定芽再生的影响很大。使用 6-BA 0.5 μg·mL^{-1} 和 NAA 0.2 μg·mL^{-1} 浓度组合可以显著提高叶片和叶柄不定芽再生率，不定芽直接再生可分别达到 63.4%和 91.2%，显著高于其他处理（表 1，表 2）。

表 1 不同植物生长调节剂对‘东红’叶片再生芽诱导的影响

Table 1 Effects of different plant growth regulators on regeneration bud induction from leaves of ‘Donghong’ *in vitro*

处理 Treatment	生长调节剂质量浓度 Concentration		不定芽再生率 Regeneration rate	再生情况描述 Regeneration description
	BA（μg·mL^{-1}）	NAA（μg·mL^{-1}）		
1	0	0	0f	叶片一周后黄化死亡 Died after a week
2	2.0	0.1	6e	愈伤化，且愈伤致密，不易分化，直接再生芽少，多畸形芽 Callus density, hard to differentiate, lot's of deformity bud
3	2.0	0.2	8.95e	大部分形成愈伤组织，直接再生芽少 Callus formation, little directly shoot regeneration
4	2.0	0.4	9.5e	愈伤组织形成早，愈伤颗粒状，水渍，易散，不易分化，直接再生芽少 Callus formation,hard to differentiation, little directly shoot regeneration
5	1.0	0.1	15.93d	分化困难，直接再生芽生长缓慢 Hard to differentiation,slowly growth of adventitious bud
6	1.0	0.2	19.41d	不易分化，少量愈伤褐化，直接再生芽生长缓慢，顶枯现象多 Hard to differentiation,callus brown, slowly growth of adventitious bud,top blight
7	1.0	0.4	30.56c	愈伤分化慢，褐化直至叶片外植体死亡，直接再生芽生长缓慢，有畸形芽 Callus differentiation slowly, brown, deformity buds
8	0.5	0.1	37.54b	叶片切口边缘形成少量愈伤，部分切口直接再生芽，每个外植体再生芽数量少 Little callus and directly regeneration bud
9	0.5	0.2	63.4a	叶片切口直接再生芽数量多，每个外植体直接再生 6-7 个不定芽 Much number of directly regeneration bud
10	0.5	0.4	36.46b	叶片切口边缘直接再生芽数量少，且生长缓慢，少量芽畸形 Little directly regeneration bud, slowly growth, little deformity bud

表 2 不同植物生长调节剂对‘东红’叶柄再生芽诱导的影响

Table 2 Effects of different plant growth regulators on regeneration bud induction from petioles of ‘Donghong’ *in vitro*

处理 Treatment	生长调节剂质量浓度 Concentration BA（μg·mL^{-1}）	生长调节剂质量浓度 Concentration NAA（μg·mL^{-1}）	不定芽再生率 Regeneration rate	再生情况描述 Regeneration description
1	0	0	0f	叶柄 10d 左右枯萎死亡 Died after 10 days
2	2.0	0.1	7.74f	两端切口很容易形成愈伤组织，偏白，水渍化，分化困难 Callus form easy,white,hard to differentiation
3	2.0	0.2	9.01f	直接再生芽少，大部分切口形成了愈伤组织，白色，不易分化 Little directly regeneration bud,white callus hard to defferentiation
4	2.0	0.4	9.64f	叶柄两端膨大后生长停滞，少量直接再生不定芽，数量少，畸形芽 Growth arrest after cell expansion at both ends, Little directly regeneration bud, deformity
5	1.0	0.1	14.19e	愈伤组织褐化直至死亡，少量外植体切口直接再生芽，不定芽瘦弱 Callus brown to die,little directly regeneration bud, grow poorly
6	1.0	0.2	18.16de	愈伤组织易褐化，不增殖，直接再生不定芽数量少 Callus brown, no proliferation,little directly regeneration bud
7	1.0	0.4	20.09d	切口愈伤化后外植体枯萎死亡，少量外植体直接再生芽，生长缓慢 Explants withered after callus formation,little directly regeneration bud,grow slowly
8	0.5	0.1	62.02b	部分外植体切口膨大后干枯死亡，部分从膨大处直接再生芽生长过程中易顶枯 Partial explants withered after incision swelling,partial directly regeneration bud, easy dieback
9	0.5	0.2	91.15a	切口两端直接再生芽数量多，每个外植体 9-12 个不定芽，色泽亮绿，不定芽生长速度快 Average amount of regeneration buds for each petiole explant was 9-12, bright green,fast growth
10	0.5	0.4	38.25c	外植体不分化，少量外植体切口部位直接再生芽生长缓慢，不定芽形成数量少 Hard to differentiation,little directly regeneration bud

2.2 不同外植体类型对不定芽诱导的比较

以‘东红’组培苗的叶片、叶柄为外植体对其分化能力进行了比较，发现在相同植物生长调节剂的相同浓度诱导下叶柄的分化能力明显好于叶片（图 1）。叶片愈伤组织分化率高，且形成的愈伤组织致密，不易分化，直接再生芽多为畸形芽，分化耗时长，大部分叶片外植体分化形成了愈伤组织，影响了直接再生不定芽的进程；叶柄直接再生不定芽多为丛芽，分化快，颜色亮绿色。因此对‘东红’来说叶柄是更好的分化材料，所以考虑选择叶柄为‘东红’不定芽再生的最佳外植体。

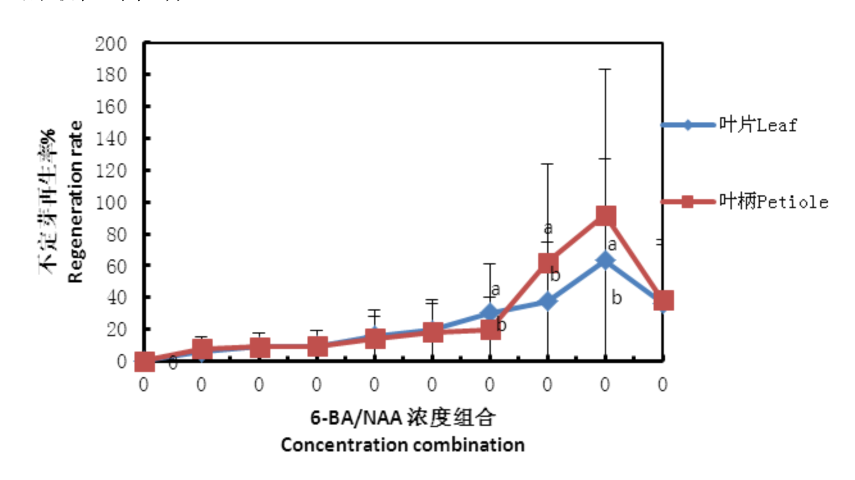


图 1 6-BA/NAA 10 组不同浓度处理下‘东红’不同部位再生能力的比较

Fig.1 Comparison of regeneration ability of different parts of ‘Donghong’ between 10 groups of 6-BA and NAA

2.3 不同质量浓度植物生长调节剂对不定芽生根的影响

在‘东红’再生培养最后的生根阶段，为保证用于不定根诱导的不定芽状态的相对一致，将再生芽接种至壮苗培养基培养 35 d 后，选择株高 2～3 cm，叶片 3～4 片的不定芽进行生根诱导，接种到含不同质量浓度的 NAA 和 IBA 的生根培养基 7 d 后发现 IBA 0.5 μg·mL^{-1} 最先产生不定根，随后其他处理陆续有不定根产生，21 d 后统计不定根形成率。由表 3 可知，不同处理情况下不定芽生根率和平均根数存在显著差异。1/2MS 培养基附加 IBA 和 NAA 均可诱导生根。不同的是 IBA 诱导生根较早，第 9 天就能肉眼观察到不定根，且不定根生长粗壮，数量多，直接都是从不定芽基部生根，没有愈伤组织的产生。而 NAA 诱导生根于不定芽基部容易形成愈伤组织再分化出不定根，但生出的根细长，瘦弱。因此，1/2 MS + 0.5 μg·mL^{-1} IBA 为‘东红’最适生根培养基。

表 3 不同植物生长调节剂对‘东红’不定芽生根的影响

Table 3 Effects of different plant growth regulators on the adventious roots regeration from stem segments of ‘Donghong’

处理 Treatment	激素 Plant growth regulator IBA （μg·mL^{-1}）	NAA （μg·mL^{-1}）	生根率 Rooting rate	平均根数 Average root number	生根情况描述 Rooting description
1	0	0	13.83f	1	生根数量少，时间长，生根难 Little rooting,time consuming,hard to root
2	0.5	0	92.33a	6	7 天即出现肉眼可见不定根，根短粗，健壮 Visible adventitious roots formed after 7days, rooting strong
3	1.0	0	75.04b	4	不定芽基部膨大，生根慢，根系偏细，瘦弱 Expansion of bud base,rooting slow,thin
4	2.0	0	52.48d	2	不定芽基部愈伤化，生根难 Callus formation,hard to root
5	0	0.5	62.36cd	5	不定芽基部形成愈伤，根细长，瘦弱 Callus formation,rooting slow, thin
6	0	1.0	70.63bc	4	不定芽基部愈伤化，根系瘦弱 Callus formation,rooting thin
7	0	2.0	40.88e	6	不定芽基部愈伤化，根系瘦弱，长势杂乱 Callus formation,rooting thin and clutter

2.4 种苗移栽

组培种苗炼苗后移栽至灭菌后基质中，20 d 后即有新叶长出，30 d 后统计成活率达 80%以上。生长后期长势良好，70～90 d 后即可出圃，此时苗高 12.5 cm，含 6～8 个饱满芽（图版 I：E、F）。

3. 讨论

植物生长调节剂的种类及浓度是植物组织培养条件摸索的最关键的环节。在猕猴桃组织培养过程中研究应用较多的的植物生长调节剂有细胞分裂素如 6-BA、ZT、KT、CPPU 等，生长素如 NAA、2,4-D、IBA、IAA 等（Muleo，1990；贾海慧，2010；刘小刚等，2013；朱学栋等，2012）。谢志兵、张远记等研究发现，培养基中添加 1.0～2.0 μg·mL^{-1} 的 ZT 对猕猴桃组培再生及后期瓶苗的生根都有很显著的促进作用（谢志兵等，2003；张远记等，1996）。细胞分裂素和生长素适宜浓度组合的培养基配方对猕猴桃组织培养过程中愈伤的分化及芽的再生有很好的促进作用，研究发现，适宜浓度的 6-BA 和 NAA 组合能显著促进猕猴桃愈伤组织形成和不定芽的分化（田娜等，2007）。另有研究表明，不同浓度的 6-BA 和 NAA 的组合处理比 6-BA 和 2,4-D 的组合处理更显著促进猕猴桃茎段愈伤组织的分化（王大平，2007）。本试验以附加不同浓度的 6-BA 和 NAA 的 MS 培养基对‘东红’叶柄和叶片进行不定芽的再生诱导，结果表明低浓度的 6-BA 0.5 μg·mL^{-1} 和 NAA 0.2 μg·mL^{-1} 的组合浓度处理对‘东红’直接再生不定芽具有很好的效果，愈伤率低，器官分化直接进行不定芽的再生阶段，不定芽直接再生率高达 91.2%。植物组织培养过程中，低浓度的植物生长调节剂促进生长，而高浓度的植物生长调节剂则抑制生长，该原理在猕猴桃组织培养中也不例外，多以低浓度为宜，尤其在不定芽伸长生长阶段（刘永立，2005；胡皓等，2011；袁云香，2011）。

猕猴桃组培苗的生根研究表明，添加常规植物生长调节剂如 IBA、NAA、IAA 即可促

进其生根（李桂君等，2010；王大平等，2008；谢志兵等，2003）。本试验结果表明'东红'不定芽在接种于添加 0.5 μg·mL^{-1} IBA 的 1/2 MS 中，诱导生根率最高，单株生根数量达 6 条，效果最优。

外植体的筛选作为植物组织培养的第一步，其重要性直接影响培养后期的细胞再生与分化以至于芽的形成（陈洪国等，2001；姜维梅等，2003；隆前进等，2010；周玲艳等，2007）。猕猴桃组织培养可供研究的外植体类型很多，带腋芽的茎段、不定芽、叶柄、叶片、花瓣、花萼、花粉、胚乳、根、形成层和原生质体均可成功诱导不定芽的再生（尚霄丽等，2010；刘长江等，2009；田新华等，2008；文国琴等，2004；Gonzalez，1995；Adam，1995；毕静华等，2005；兰大为伟等，2007）。本试验研究发现，叶片在诱导分化过程中容易形成致密的不易分化的愈伤组织，少量直接再生的不定芽畸形芽偏多，而叶柄不定芽直接再生率显著高于叶片，分化速度快，直接简化了从愈伤组织到不定芽分化的过程，缩短了育种进程，为产业化快速生产种苗提供了有力的保证。

参考文献：

ADAM MATKOWSKI, 1995. Callus induction and plant regeneration *in vitro* in Actinidia[J]. Acta Soc Bot Pol, 64(2):131-138.

BI JH, LIU YL, SYED ASGHAR, 2005. *In vitro* organogenesis and plant regeneration from leaf explants of *Actinidia latifolia*[J]. J Fruit Sci, 22(4): 405-408.[毕静华，刘永立，Asghar Syed，2005．阔叶猕猴桃叶片离体器官发生和植株再生(英文)[J]．果树学报，22(4)：405-408.]

CHEN HG, XIONG YM, 2001. Effects of different explants and growth regulators on the formation and regeneration of the callus of kiwifruit[J]. FuJian Fruits, (4):3-4.[陈洪国，熊月明，2001.不同外植体和生长调节剂对猕猴桃愈伤组织形成与再分化的影响[J].福建果树，(4)：3-4.]

GONZALEZ, M V, REY M, RODRIGUEZ R, 1995. Plant regeneration from petioles of kiwifruit microshoots[J]. Hort Sci, 30(6): 1302-1303.

HU H, ZHANG ZD, 2011. Study on micropropagation of *Actinidia arguta* 'Kuilu'[J] . Jilin Agric, (2): 71-72.[胡皓，张志东，2011.软枣猕猴桃"魁绿"品种组培微繁技术研究[J].吉林农业，(2)：71-72.]

HUANG HW, 2013. Actinidia germplasm resources in China[M]. Beijing：China Forestry Publishing House: 115.[黄宏文，2013.中国猕猴桃种质资源[M]. 北京：中国林业出版社：115.]

HUANG HW, GONG JJ, WANG SM., et al, 2000. Genetic diversity in the genus Actinidia[J]. Chin Biodivers, 8(1): 1-12.[黄宏文，龚俊杰，王圣梅等，2000. 猕猴桃属(Actinidia)植物的遗传多样性[J].生物多样性，8(1)：1-12.]

JIA Haihui, 2010. Callus Induction and regeneration of *Actinidia chinensis*[J]. J ShanDong For Sci Tech, (3): 41-42.[贾海慧，2010.中华猕猴桃愈伤组织的诱导与分化[J].山东林业科技，(3)：41-42.]

JIANG WM, LI FY, 2003. Establishment of plantlet regeneration system of *Actinidia macrosperma*[J]. J Zhejiang Univ, 29(3):295-299.[姜维梅，李凤玉，2003.大籽猕猴桃(*Actinidia macrosperma*)离体再生系统的建立[J]. 浙江大学学报：农业与生命科学版，29(3)：295-299.]

LAN DW, LIU YL, YUAN TL, 2007. Organogenesis, somatic embryogenesis and plantlet regeneration from leaf explants of *Actinidia kolomikta* cultured *in vitro*[J]. J Fruit Sci, 24(2): 218-222.[兰大伟，刘永立，原田隆，2007. 狗枣猕猴桃叶片离体培养的器官、体细胞胚形成与植株再生(英文)[J].果树学报，24(2)：218-222.]

LI GJ, SONG JL, WU J, 2010. Study on tissue culture in vitro of *Actinidia polygama*[J]. Chin New Technol Products, (14): 216-217.[李桂君，宋嘉隆，吴捷，2010.葛枣猕猴桃组培繁殖的研究[J].中国新技术新产品，(14)：216-217.]

LIU CJ, LIU GC, ZHAO DY, et al, 2009. Study on shoot tip culture of *Actinidia arguta*[J]. China Fruits, (2):32-34.[刘长江，刘国成，赵德英，等，2009. 野生软枣猕猴桃茎尖培养研究[J].中国果树，(2)：32-34.]

LIU XG, JIAO J, ZHAO Y, et al. Efficiency plant regeneration and browning condiction of *Actinidia arguta*[J]. Chin Agric Sci Bul, 2013, 29(19):113-119.[刘小刚，焦晋，赵宇，等，2013.野生软枣猕猴桃组织培养及褐变处理[J].中国农学通报，29(19)：113-119.]

LIU YL, LAN DW, BI JH, et al, 2005. Organ formation and plant regeneration *in vitro* of *Actinidia polygama*[J]. J Fruit Sci, 22(3): 220-223.[刘永立，兰大伟，毕静华，等，2005.葛枣猕猴桃组织培养中的器官形成与植株再生[J].果树学报，22(3)：220-223.]

LIU Z, ZHANG TK, ZHANG HY, 2013. Research status and prospect of tissue culture of *Actinidia chinensis*[J]. J Fujian For Sci Tech, 40(4):231-235.[刘铮，张太奎，张汉尧，2013.猕猴桃组织培养研究现状与展望[J].福建林业科技，40(4)：231-235.]

LONG QJ, 2010. *In vitro* culture and rapid micro-propagation of kiwifruit (*Actinidia eriantha* ‘White’ and *Actinidia chiensis* ‘Hongyang’). ZheJiang: Zhejiang Normal University.[隆前进，2010.猕猴桃组织培养和快繁技术研究[D].浙江：浙江师范大学.]

LONG QJ, WU YJ, XIE M, 2010. Tissue culture and rapid micropropagation from leaves and stems of kiwifruit (*Actinidia chinensis* cv. Hongyang)[J]. J Zhejiang Agric Sci, 22(4): 429-432.[隆前进，吴延军，谢鸣，2010.‘红阳’猕猴桃叶片和带芽茎段的组织培养快繁技术[J].浙江农业学报，22(4)：429-432.]

MULEO, R , MORINI S, 1990. Effect of light quality on regeneration from callus of *Actinidia deliciosa*[J]. Acta Hort, (280):155-158.

QI XJ, XU SK, LIN MM,et al, 2015. Research advances on fruit coloring mechanism in red-fleshed kiwifruit[J]. J Fruit Sci, 32(6): 1232-1240.[齐秀娟，徐善坤，林苗苗，等，2015.红肉猕猴桃果实着色基质研究进展[]J].果树学报，32 (6)：1232-1240.]

QIN YH, ZHANG SL,ZHU DY, 2004. Advances of research in tissue culture and genetic transformation on Kiwifruit[J]. J Cell Biol, 26(1): 57-61.[秦永华，张上隆，朱道圩，2004.猕猴桃的组织培养和遗传转化研究进展[J].细胞生物学杂志，26(1)：57-61.]

SHANG XL, MA CH, FENG JC,et al, 2010. Establishment of regeneration system from leaves of *Actiniadia chinensis*[J]. J Jiangxi Agric Sci, 22(4): 50-52.[尚霄丽，马春华，冯建灿，等，2010.中华猕猴桃叶片再生体系的建立[J].江西农业学报，22(4)：50-52.]

TIAN N, XU ZQ, HE JG, 2007. Establishment of high frequency and direct regeneration system of Kiwifruit(*Actinidia deliciosa* Qinmei)[J]. J Microbiol, 25(1): 79-83.[田娜，徐子勤，何近刚，2007.猕猴桃高频直接再生体系的建立(英文)[J].武汉植物学研究，25(1)：79-83.]

TIAN XH, LU HY, WU J, 2008. Study on tissue culture *in vitro* of *Actinidia arguta*[J]. Forestry Science and Technology, 33(6): 56-58.[田新华，卢慧颖，吴捷，2008.软枣猕猴桃组织培养的研究[J].林业科技，(6)：56-58.]

WANG DP, 2007. The effect of hormone combination with different concentrations on the callus induction and bud differentiation of kiwifruit[J]. J Anhui Agric Sci, 35(36): 11761, 11821.[王大平，2007.不同浓度的激素组合对猕猴桃愈伤组织诱导及芽分化的影响[J].安徽农业科学，35（36）：11761，11821.]

WANG DP, YANG L, 2008. Study on rooting culture in tissue culture seedlings of *Actinidia deliciosa*[J]. J Anhui Agric Sci, 36(21): 8930-8931.[王大平，杨玲，2008.猕猴桃组培苗生根培养的研究[J].安徽农业科学，(21)：8930-8931.]

WEN GQ, HE Z, 2004. Multiplication plant technique of *Actinidia chinensis* stem section callus[J]. J Fujian For Sci Tech, 3(4): 78-79.[文国琴，何震，2004.红阳猕猴桃茎段愈伤组织诱导成苗技术[J].福建林业科技，3(4)：78-79.]

XIE ZB, LU XD, 2003. Effects of different concentrations of IBA on rooting of tissue cultured seedlings of kiwifruit[J]. Deciduous Fruits, (2):9-10.[谢志兵，鲁旭东，2003.不同浓度的 IBA 对猕猴桃组培苗生根的影响[J].落叶果树，(2)：9-10.]

XIE ZB, LU XD, 2003. Study on screening of appropriate hormone combinations in tissue culture of kiwifruit[J]. Northern Fruits, (3): 7-8.[谢志兵，鲁旭东，2003.猕猴桃组织培养中适宜激素组合的筛选[J].北方果树(3)：7-8.]

YUAN YX, 2011. Study on regeneration system of high frequency genetic transformation kiwifruit(Qinmei)[J]. J Hubei Agric Coll, 50(14):2993-2994.[袁云香，2011. 秦美猕猴桃高频遗传转化再生体系的建立[J].湖北农业科学，50(14)：2993-2994.]

ZHANG JY, MO ZH, HUANG SN, et al, 2014. Development of kiwifruit industry in the world and analysis of trade and international competitiveness in China entering 21st centry. Chin Agric Sci Bul, 30(23): 48-55.[张计育，莫正海，黄胜男，等，2014.21 世纪以来世界猕猴桃产业发展以及中国猕猴桃贸易与国际竞争力分析.中国农学通报，30（23）：48-55.]

ZHANG YJ, QIAN YQ,1996,. Callus induction and plant regeneration from leaves and stem segments of in vitro shoots of *Actinidia arguta*[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, (2): 137-141.[张远记，钱迎倩，1996.软枣猕猴桃试管苗叶片和茎段的愈伤组织诱导及植株再生[J].西北植物学报，(2)：137-141.]

ZHOU LY, QIN HM, LAI XY ,et al, 2007. Establishment of the regeneration system from the seedlings of kiwifruit[J]. Northern Hort, (5): 198-200.[周玲艳，秦华明，赖幸韵，等，2007.猕猴桃实生苗再生体系的建立[J].北方园艺，(5)：198-200.]

ZHU XD, LIU YQ ZHAO RL,et al, 2012. Study on fast plant regeneration of *Actinidia chinensis*[J]. J Hubei Agric Coll, 51(11): 2369-2371.[朱学栋，刘奕清，赵荣隆，等，2012.红阳猕猴桃快速繁殖体系的建立[J].湖北农业科学，51(11)：2369-2371.]



图版 I　‘东红’再生体系的建立及移栽

Plate I　*In vitro* regeneration and transplant of ‘Donghong’

注：A.叶片不定芽的再生；B.叶柄不定芽的再生；C.壮苗培养；D.不定根诱导；E.移栽一个月后种苗状况；F.移栽三个月种苗状况。

Note：A. *In vitro* regeneration from leaves of ‘Donghong’;B. *In vitro* regeneration from petioles of ‘Donghong’; C. Elongation culture of adventitious bud; D. Root induction; E. Transplanting after 30 days; F. Transplanting after 90 days.